

ЗНАЧЕНИЕ ФАКТОРОВ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА В ПАТОГЕНЕЗЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО БАЛАНТИДИАЗА

А. Е. Карапетян, З. С. Исаакян, А. М. Завгородняя

Ереванский государственный медицинский институт

Многократными подкожными иммунизациями взрослых белых крыс антигенами, полученными из культур *B. coli* и *B. suis*, удалось сенсibilизировать их и в последующем заразить культуральными формами балантидий. В просвете толстого кишечника у 75% заразившихся крыс обнаруживались инфузории. В тканях кишечной стенки, вплоть до мышечного слоя, наблюдались умеренно выраженные патоморфологические изменения (гиперемия, отек, геморрагия и язвы). С помощью постановки реакции торможения миграции макрофагов установлено, что в процессе иммунизации и последующего заражения в организме крыс появляются сенсibilизированные по отношению к балантидиальному антигену лимфоциты, что указывает на формирование в их организме замедленной аллергии.

До последнего времени иммунологические аспекты балантидиазной инвазии изучены недостаточно. Так, в частности отсутствуют работы по выявлению у больных балантидиазом и у экспериментально зараженных животных аллергических реакций замедленного и немедленного типа.

В настоящей работе мы поставили перед собой задачу изучить клеточный иммунитет у крыс при их многократной иммунизации балантидиальными антигенами. Кроме того, мы предполагали, что при повторной сенсibilизации животных специфическим антигеном удастся повысить их чувствительность к последующему заражению балантидиями.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Под опытом находились 32 беспородные крысы обоего пола весом 150—210 г. Из них 20 крыс были опытными, а 12 животных составляли контрольную группу, которые заражались балантидиями без предварительной иммунизации. Для иммунизации и последующего заражения были использованы два штамма балантидий, растущих в ассоциации с неидентифицированной бактериальной флорой.

Штамм *Balantidium coli* выделен от больного с острой формой балантидиаза и получен нами из отдела протозоологии Института Зоологии и паразитологии АН ЛитССР в 1975 г.

Штамм *Balantidium suis* выделен нами от свиньи в 1971 г. Оба штамма поддерживались на среде Павловой, пересевы производились через каждые 3 суток. Для получения антигена отбирались 3—4 пробирки с 48-часовой культурой балантидий с обильным ростом. Содержимое пробирок для освобождения от зерен крахмала фильтровали через два слоя марли с последующим двухкратным центрифугированием при 1000 об./мин в течение 10 мин.

Для промывания использовался раствор Рингера. После центрифугирования инфузории концентрировались из расчета 12 000—15 000 особей в 1 мл раствора и кипятились на водяной бане в течение 10 мин. Надосадочная жидкость после центрифугирования при 2000 об./мин

в течение 10 мин отсасывалась и применялась как антиген для иммунизации животных и постановки серологических реакций.

Из подопытных животных 10 крыс иммунизировались антигеном, полученным из штамма *B. coli*, и 10-антигеном, полученным из штамма *B. suis*. Крысам антиген вводился подкожно, в объеме 1 мл, с недельными интервалами. 4 раза вводился убитый антиген, а 5-й раз — живая культура, содержащая такое же количество инфузорий, как и убитый антиген. Спустя неделю после последней иммунизации производилось заражение животных путем интрацекального введения 0.5 мл 48-часовой культуры, содержащей 10 000—12 000 балантидиев. Опытные и контрольные животные забивались в сроки от 7 до 14 дней. У убитых животных исследовалось содержимое слепой кишки на наличие балантидий. Животное считалось заразившимся при обнаружении паразитов в кишечном содержимом или в соскобах из слизистой. О степени поражения кишечника судили по наличию экссудата, отека и язв.

Для определения степени сенсибилизации организма в процессе иммунизации была поставлена реакция торможения миграции макрофагов (РТММ). Для получения макрофагов за 3 ч до забивки в брюшную полость крыс вводилось 10 мл стерильного 10%-го мясо-пентонного бульона. После забоя животных жидкость отсасывалась и после центрифугирования при 1500 об./мин в течение 10 мин осадок, содержащий макрофаги и другие форменные элементы, использовался для постановки РТММ (George a. Vaughan, 1962; Вязов и Ходжаев, 1973). При постановке указанной реакции использовался балантидиальный антиген, применяемый при иммунизации крыс. В каждую камеру с культурой макрофагов вносился 0.1 мл антигена. Учет результатов реакции и определение индекса миграции (ИМ) производился спустя 24 ч.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Как видно из представленных в таблице данных, из 20 крыс, подвергнутых 5-кратной иммунизации балантидиальным антигеном при последующем заражении музейными штаммами *B. coli* и *B. suis*, заразились 15. У всех заразившихся крыс в полужидком кишечном содержимом были обнаружены хорошо подвижные балантидии с выраженной фагоцитарной активностью, довольно часто попадались и делящиеся формы. Паразиты были обнаружены вплоть до 17-го дня после заражения (максимальный срок наблюдения). У 3 крыс количество балантидиев было так ве-

Результаты заражения белых крыс культурами
Balantidium coli и *Balantidium suis*

Использованные штаммы	Сроки забивки после заражения, в сутках	Число зараженных крыс	Число заразившихся крыс	Число крыс с поражением кишечника	Индекс миграции ($M \pm m$)
<i>B. coli</i>	7	5	4	4	0.42 ± 0.02
	9	2	2	2	0.3 ± 0.05
	12	3	2	2	0.2 ± 0.08
<i>B. suis</i>	7	3	1	1	0.33 ± 0.03
	12	4	3	3	0.22 ± 0.1
	14	2	2	2	0.18 ± 0.08
	17	1	1	1	0.1
Всего		20	15	15	
Контроль:					
<i>B. coli</i>	7	6	1	—	0.68 ± 0.04
<i>B. suis</i>	7	6	—	—	0.66 ± 0.02
Всего		12	1		

лико, что на 12-й день после заражения удалось выделить культуры, которые поддерживались в лаборатории в течение 5 мес. У этих животных балантидии, кроме содержимого слепой кишки, были обнаружены и в остальных отделах толстого и даже в нижних отделах тонкого кишечника.

Макроскопические изменения слизистой оболочки слепой кишки носили характер гиперемии, отека, геморрагии, эрозии и язв. Размеры последних колебались от точечных до просяного зерна. У части животных разрушения были глубокими и доходили вплоть до мышечного слоя толстого кишечника. В подслизистой оболочке почти у всех подопытных животных наблюдалась характерная для ГЗТ (гиперчувствительность замедленного типа) островковая периваскулярная мононуклеарная инфильтрация, состоящая преимущественно из лимфоцитов, моноцитов и макрофагов. Изменения наблюдались и в серозной оболочке слепой кишки: она была бугристой, желто-белого цвета.

Из 12 контрольных крыс при интрацекальном заражении теми же штаммами балантидий положительный результат с обнаружением инфузорий в кишечнике, но без поражения тканей, был зарегистрирован у 1 крысы.

Результаты постановки реакции миграции макрофагов показывают, что в процессе иммунизации и последующего заражения культурами *B. coli* и *B. suis* у крыс появляются сенсibilизированные лимфоциты. С удлинением срока наблюдения показатели индекса миграции понижаются (0.42 ± 0.02 на 7-й день после заражения; 0.2 ± 0.08 на 12-й день). У контрольных животных ИМ был отрицательным (более 0.6).

ОБСУЖДЕНИЕ

Представленные данные показывают, что многократной иммунизацией белых крыс балантидиальным антигеном удалось сенсibilизировать их, вызвать у них замедленную аллергию и в последующем заразить музейными штаммами балантидий, выделенных от человека и свиньи. С помощью указанного приема удалось заразить до 75% животных. Следует отметить, что другими авторами при заражении молодых крыс весом 20—30 г были получены более скромные результаты. Так, например, Богдановичу (1962) культурами *B. coli* и *B. suis* удалось из 241 крысы заразить — 52, причем лишь у 24 из них были обнаружены патогистологические изменения в кишечнике.

Восканян (1970) культурой *B. suis* удалось заразить лишь 19.4% молодых крыс, при этом ни в одном случае не были обнаружены изменения в слизистой оболочке кишечника, при заражении крыс балантидиями человека заражались 94.3% и лишь у 20.2 были отмечены патогистологические изменения в слепой кишке.

В отличие от этого в наших опытах в толстом кишечнике у заразившихся животных наблюдались ярко выраженные, характерные для балантидиаза патоморфологические изменения. В содержимом и тканях кишечника были обнаружены жизнеспособные инфузории. Каких-либо отличий в вирулентных свойствах использованных штаммов не удалось обнаружить. Как штамм *B. coli*, выделенный от человека, так и штамм *B. suis*, выделенный от свиньи, одинаково успешно заражали крыс. Эти данные показывают, что вряд ли эффект заражения зависит от биологических свойств отдельных по происхождению штаммов балантидий.

В данном случае, по нашему мнению, успех заражения и тяжесть поражения кишечника подопытных животных зависит от степени сенсibilизации организма балантидиальным антигеном.

Об этом говорят результаты наших иммунологических исследований. Так, например, при постановке РТММ у контрольных незаразившихся крыс ИМ был выше 0.6 (отрицательная реакция), а у иммунизированных и в последующем заразившихся крыс этот показатель к концу срока наблюдения снизился до 0.1—0.2 (положительная реакция).

Результаты наших экспериментальных исследований позволяют высказать предположение, что примерно такой же механизм патогенеза может иметь место и при балантидиазе у людей. При первичной встрече организма с балантидиями, по всей вероятности, устанавливается бессимптомное носительство или же клинически слабо выраженные формы заболевания, переходу которого в клинически более выраженные формы болезни способствует специфическая сенсibilизация организма с формированием замедленной аллергии и с характерными для нее патоморфологическими поражениями кишечника.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Многократными подкожными иммунизациями взрослых белых крыс антигенами, полученными из культур *B. coli* и *B. suis*, удалось сенсibilизировать их и в последующем заразить культуральными формами балантидий. В просвете толстого кишечника у 75% заразившихся крыс обнаруживались инфузории. В тканях кишечной стенки, вплоть до мышечного слоя, наблюдались умеренно выраженные патоморфологические изменения (гиперемия, отек, геморрагии и язвы). В подслизистом слое выявлялись характерные для ГЗТ островковые периваскулярные мононуклеарные инфильтрации. С помощью постановки РТММ установлено, что в процессе иммунизации и последующего заражения в организме крыс появляются сенсibilизированные по отношению к балантидиазному антигену лимфоциты, что указывает на формирование в их организме замедленной аллергии. Последняя играет определенную патогенетическую роль в развитии кишечных поражений при хронических формах балантидиаза.

Л и т е р а т у р а

- Богданович В. В. 1972. Балантидиаз с сопутствующей глистной инвазией (в условиях эксперимента). Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 31 : 711—715.
- Восканян К. М. 1970. Исследования по балантидиазу в Армянской ССР. Автореф. канд. дис. Ереван : 3—28.
- Вязов О. Е., Ходжаев Ш. Х. 1973. Руководство по иммунологии, «Медицина», М. : 5—391.
- George M., Vaughan J. H. 1962. In vitro cell migration as a model for delayed hypersensitivity Proc. Soc. Exp. Biol. 4 (111) : 514—521.

A ROLE OF THE FACTORS OF CELL IMMUNITY FOR PATHOGENESIS OF EXPERIMENTAL BALANTIDIASIS

A. E. Karapetian, Z. S. Isaakian, A. M. Zavgorodnaja

S U M M A R Y

Adult white rats were immunized by numerous subcutaneous injections of antigens obtained from the cultures of *B. coli* and *B. suis*. After the rats were sensibilized they were infected with cultural forms of *Balantidium*. 75% of infected rats were found to have ciliates in the lumen of the large intestine. In the tissues of the intestinal wall up to the muscular layer there were observed certain pathomorphological changes such as hyperemia, oedema, haemorrhagia and ulcers. By means of the macrophage migration test it was established that in rats during their immunization and following infection appear lymphocytes which are sensibilized in relation to the balantidial antigen that points to the formation of slow allergy in their organisms.
